Gedruckt auf Kosten des Jerome und Margaret Stonborough-Fonds

Histochemische Untersuchung einiger flavonführender Farbhölzer

Von

Josef Kisser

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien
Nr. 200 der zweiten Folge

(Vorgelegt in der Sitzung am 8. Februar 1923)

Die chemische Erforschung der Farbstoffe zahlreicher technisch verwerteter Farbhölzer wurde — einem praktischen Bedürfnis entsprechend — schon vor langer Zeit in Angriff genommen und ihre Konstitution[1] zum größten Teil bereits aufgeklärt. Ihrer chemischen Natur nach sind sie vorwiegend einerseits Derivate des Anthracens und Anthrachinons, anderseits des Flavons, das ja auch die Stammsubstanz der Anthocyane, Anthochlore und der weitverbreiteten und vielfach technisch verwendeten natürlichen Beizenfarbstoffe ist, für die histochemische Methoden bereits ausgearbeitet sind,[2] für die letztgenannte Gruppe erst in jüngster Zeit von Klein,[3] der auch ihre weite Verbreitung im Pflanzenreiche zeigen konnte. Wenn auch die Verhältnisse bei Hölzern im allgemeinen anders liegen als im lebenden Gewebe, so zeigten doch die Versuche von Klein bei einigen flavonführenden Hölzern und Drogen, daß seine Methodik auch in diesen Fällen im großen und ganzen Anwendung finden kann. Dadurch war der Weg gewiesen und es bestand die Möglichkeit einer histochemischen Charakterisierung dieser Farbstoffe. Nur diese (Flavonderivate) sollen im folgenden behandelt werden.

Nach den wenigen vorliegenden Untersuchungen wurde Nachweis, Lokalisation im Gewebe und nähere Charakterisierung nur durch Farbenreaktionen geführt. Deren Bedeutung gerade in diesen Fällen darf nicht unterschätzt werden, da sie für manche Farbhölzer sehr charakteristisch sind, dadurch die Möglichkeit einer genaueren Diagnostizierung besteht und endlich die Lokalisation des Farbstoffes ausschließlich nur auf Grund solcher Reaktionen zu ermitteln ist. Von diesen Gesichtspunkten ausgehend, hat Vogl[4] auf Grund verschiedener Reaktionen versucht, charakteristische

[1] Für die zahlreiche chemische Literatur vgl. Czapek, Biochemie der Pflanze, 3. Bd., II. Aufl., Jena 1921, p. 402—443, und Rupe in Abderhalden, Biochemisches Handlexikon, Bd. VI, Berlin 1911.

[2] Molisch H., Über amorphes und krystallisiertes Anthokyan. Bot. Zeitung, 1905. — Klein G., Studien über das Anthochlor. I. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien, math.-naturwiss. Kl. 1920, Bd. 129, Abt. I, 7. u. 8. Heft. — Derselbe, II. Ebenda. 1921, Bd. 130, Abt. I, 6. u. 7. Heft.

[3] Klein G., Der histochemische Nachweis der Flavone. Ebenda, 1922, Bd. 131, Abt. I, 1. bis 3. Heft.

[4] Vogl A., Untersuchungen über den Bau und das mikrochemische Verhalten der wichtigsten Farbhölzer des Handels. Lotos. Jg. XXIII, 1873, p. 49 u. 157.

Merkmale und Kennzeichen für im Handel befindliche Sorten, besonders solche, die in der Färbetechnik Verwendung finden, ausfindig zu machen, um daduch eine Unterscheidung einzelner Sorten zu ermöglichen. Auch Praëls[1] Untersuchungen erstrecken sich vorwiegend auf solche Hölzer, deren Kerne Farbstoffe führen und die auch in Pharmazie, Färberei und Tischlerei verwendet werden. Durch Lösungsmittel als auch mittels anderer Reagentien studierte er die Inhaltsstoffe der Zellen sowie das Verhalten der in den Membranen festgehaltenen Farbstoffe und deren Lokalisation. Weitere diesbezügliche Angaben finden sich bei Möeller,[2] Brick,[3] Hanausek,[4] Hassack,[5] besonders aber bei Wilhelm,[6] wo die einzelnen Reaktionen oft zur näheren Charakterisierung herangezogen werden, und in zahlreichen anderen, mehr praktischen Bedürfnissen Rechnung tragenden Lehr- und Handbüchern, einiges auch bei Molisch[7] und Tunmann.[8]

Die Farbstoffe liegen sowohl im Zellinhalt, als auch in den Membranen. Im Zellinhalt zumeist in den parenchymatischen Elementen (Holzparenchym und Markstrahlen), aber auch in allen übrigen als körnige, amorphe Massen abgeschieden, in Tröpfchenform, neben Gerbstoffen oder aber auch von Harz- und Gummimassen, die Gefäße und andere Elemente oft teilweise erfüllen, absorbiert. Die Zellenwände erscheinen, besonders bei dickeren Schnitten, durch und durch gefärbt. Die Ansichten über den Ort der Entstehung der Farbstoffe sind geteilt. Sanio[9] vertritt die Anschauung, daß sie aus dem Zellinhalt stammen und beim Absterben und Eintrocknen von den Membranen absorbiert und festgehalten werden, desgleichen Praël (l. c.), der zu ihrer Bekräftigung Versuche anstellte, ob die Membranen für solche ursprünglich gelöste Farbstoffe tatsächlich permeabel sind und sie festhalten können. Er fand in den Fällen, wo er Splintholz mit Kernholzfarbstoffen ein und derselben Pflanze (z. B. *Caesalpinia Sappan, Baphia nitida*) und auch anderen färbte, daß in allen Fällen durch nachträgliche Extraktion mit geeigneten Lösungsmitteln nicht aller Farbstoff entfernt werden konnte und so die Membranen schwach gefärbt bleiben. Vogel (l. c.) will jedoch auf Grund seiner anatomischen Befunde die Entstehung in den Membranen direkt vor sich gehen lassen. Er findet, daß alle Schichten der Membran Farbstoffe führen, am reichsten aber die Interzellularsubstanz, wie aus ihrem Verhalten gegen Quellungs- und Lösungsmittel hervorgeht. Ferner, daß diese Schichte im Splint (bei Domingo-Blauholz) zu einer Zeit schon gefärbt ist, wo alle anderen Zellwandschichten noch vollkommen farblos sind und im Zellinhalt selbst wenig oder noch gar kein Farbstoff vorhanden ist. Auf Grund dieser Beobachtungen zieht er den Schluß, daß eine Infiltration dafür nicht verantwortlich gemacht werden könne, sondern eine chemische Umwandlung an Ort und Stelle.

Durch eine von Wislicenus[10] aufgestellte Theorie über die Bildung des Holzes, die von ihm experimentell begründet wurde, kann auch die Entstehung der

---

[1] Praël E., Vergleichende Untersuchungen über Schutz- und Kernholz der Laubbäume. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. 19, 1888, p. 1 ff.

[2] Moeller J., Beiträge zur vergleichenden Anatomie des Holzes. Denkschriften d. kais. Akad. d. Wiss., math.-naturwiss. Klasse, 36. Bd., Wien, 1876. — Derselbe, Das Holz. In »Die Rohstoffe des Tischler- und Drechslergewerbes«, Kassel, 1883.

[3] Brick C., Beitrag zur Kenntnis und Unterscheidung einiger Rothölzer. Jahrb. der Hamburgischen wiss. Anstalten. VI. Jg., 1888, I. Hälfte, p. 105.

[4] Hanausek T. F., Lehrbuch der technischen Mikroskopie. Stuttgart, 1901.

[5] Hassack K., Lehrbuch der Warenkunde, II. Teil, Wien.

[6] Wilhelm K., Hölzer. In Wiesner J. »Die Rohstoffe des Pflanzenreiches«, 2. Bd., III. Aufl., Leipzig, 1918.

[7] Molisch H., Mikrochemie d. Pflanze. Jena, 1923, III. Aufl.

[8] Tunmann O., Pflanzenmikrochemie. Berlin, 1913.

[9] Sanio C., Einige Bemerkungen über den Bau des Holzes. Bot. Zeitung, 18. Jg., 1860, p. 203.

[10] Wislicenus H., Über kolloidchemische Vorgänge bei der Holzbildung und die stoffliche Natur des Holzes und »Lignins«. Zeitschrift für Chemie und

Farbstoffe eine Erklärung erfahren, wenn man festhält, daß die Holzbildung in drei Abschnitten verläuft, die Bildung des Zellulosegerüstes, die Auflagerung kolloider Bestandteile durch Adsorbtion und Gelbildung (Verdickung und Ausgestaltung der Membranen) und endlich die zwischen den adsorbierten Hydrogelen stattfindenden chemischen Reaktionen, die in erster Linie zur Bildung des Kollektivbegriffes »Holzsubstanz« führen.

Das Auftreten von Farbstoffen in den Membranen ließe sich demnach so erklären, daß alle für ihre Bildung notwendigen Baustoffe ihre Entstehung im Zellinneren, im Protoplasma nehmen, schon frühzeitig den Membranen ein- oder aufgelagert werden, dort im gegebenen Falle untereinander in Reaktion treten und so ihre Entstehung veranlassen, daß ihre Vorstufen also jederzeit vorhanden sind und es nur der Auslösung der Reaktion bedarf.

Methodik.

Für die Charakterisierung der einzelnen Farbstoffe wurden herangezogen: ihre Löslichkeitsverhältnisse, die Löslichkeit in Alkalien mit typischer Farbe, das Verhalten gegen Säuren, die Fähigkeit Metallniederschläge zu bilden und das Reduktionsvermögen von Fehling'scher Lösung und ammoniakalischem Silbernitrat. Dabei wurden die schon bekannten Reaktionen durchgeprüft und wo sich Abweichungen ergaben, dies vermerkt. Eine Krystallisation aus Lösungsmitteln sowie die Darstellung der Kalium- und Natriumsalze gelang im allgemeinen nicht, wohl aber die Krystallisation mittels HCl, immer aber nur außerhalb des Gewebes.

Brauchbare Resultate gab die Methodik, die von Klein ausgearbeitet wurde, mußte aber in manchen Fällen eine Modifikation erfahren. Er bringt auf einen hohlen Objektträger einige Tropfen rauchende HCl, gibt darüber einen 4 bis 6 *mm* hohen Glasring und auf diesen das Deckglas mit dem zu prüfenden Gewebestück. Der so adjustierte Objektträger kommt nun in einen Trockenschrank von 40° C. und wird daselbst eine Viertel- bis eine halbe Stunde belassen, bis sämtliche HCl abgedampft ist. Waren Flavone vorhanden, so sind sie an Ort und Stelle in der Zelle in Krystallform abgeschieden. Handelt es sich um die Prüfung trockener Proben (Drogen, Pulver etc.), so ist ein Befeuchten mit Methylalkohol, Äthylalkohol, Eisessig oder einem anderen Lösungsmittel notwendig. Schnitte durch Hölzer gaben nur in den seltensten Fällen brauchbare Resultate, wohl aber, wenn das Holz mit einer Feile fein zerrieben und auf dem Deckglas mit Alkohol oder Eisessig durchfeuchtet, der Einwirkung von HCl-Dampf ausgesetzt wurde. Der Grund dafür ist wohl darin zu suchen, daß im ersteren Falle viel zu wenig Farbstoff in Lösung gehen konnte. Sehr schöne Krystallisation erhielt ich auch, wenn HCl-Dampf kalt einwirkte. Möglichst großen Schnitten wurde unter Deckglas durch Aufkochen mit Alkohol oder Essigsäure möglichst viel Farbstoff entzogen und diese Präparate

---

Industrie der Kolloide, Bd. VI, 1910. und Über kolloidchemische Vorgänge bei der Holzbildung und über analoge Vorgänge außerhalb der Pflanze. Tharandter Forstl. Jahrbuch, Bd. 60 (Leipzig. Band 1909).

in eine mit rauchender HCl beschickte Glasdose übertragen. Es tritt sofort ein Farbenumschlag ein, zuerst an den Deckglasrändern beginnend und durchdringt schließlich die ganze Flüssigkeit. Nimmt man sie dann heraus und läßt sie bei Zimmertemperatur eintrocknen, so kann man oft reichlich neben amorphen krümeligen Massen Krystallprodukte finden, meist Sphärite oder Schollen, bei manchen Objekten auch Nadeln, Nadelbüschel oder Doppelpinsel. Besonders schön ist die Krystallbildung am Deckglasrande oder dort, wo Flüssigkeit hervorgetreten ist. Schnitte, die ohne Deckglas so behandelt wurden, gaben weniger gute Resultate, da die Flüssigkeit auf dem Objektträger rasch auseinanderläuft. Von einer Lokalisation, die auch auf diesem Wege nicht angestrebt wurde, kann natürlich nicht die Rede sein, diese läßt sich nur mit Zuhilfenahme von Farbenreaktionen ermitteln. Wo es möglich war, wurden auch reine Lösungen der Farbstoffe zum Vergleich herangezogen.

Die Frage nach der chemischen Zusammensetzung der erhaltenen Krystalle, ob es sich um reinen abgeschiedenen Farbstoff oder um Säureadditionsprodukte handelt, muß auch hier offen gelassen werden. Klein vermutet letzteres und es gewinnt diese Ansicht auch dadurch eine weitere Stütze, daß z. B. das Brasileïn nach Untersuchungen von Herzig und Pollak[1] ein Salzsäureadditionsprodukt, das Brasileïnchlorhydrat ($C_{16}H_{12}O_5 + HCl$) bildet, das durch Einleiten von gasförmigem HCl in eine alkoholische Lösung in Form von roten Krystallen gewonnen wird, und auf analogem Wege auch mikrochemisch durch Einwirkung von HCl-Dampf auf das durch Alkohol oder Eisessig aus den Schnitten herausgelöste Brasileïn. Und das (HCl-Dampf) ist ja auch der Weg, der beim histochemischen Nachweis der Flavone im allgemeinen eingeschlagen wird. Dazu kommt noch ihre Unlöslichkeit in Salzsäure selbst, die dort, wo Säureadditionsprodukte infolge der Konstitution nicht möglich sind, als einzige Ursache für die Krystallbildung in Betracht kommen dürfte.

Was die Konzentration der verwendeten Reagentien anlangt, so ist sie in einigen Fällen angegeben, wo nicht, ist sie für den Ausfall der Reaktion nicht von Belang oder ergibt sich von selbst. Eisenchlorid wurde 5% in alkoholischer Lösung, Bleiacetat gesättigt in Alkohol angewendet.

Histochemische Untersuchung.

Brasilin, beziehungsweise Brasileïn

findet sich im Rotholz, dem Kernholz verschiedener *Caesalpinia*-Arten. Besonders wertvolle Produkte liefern *Caesalpinia echinata* Lam. (Fernambukholz) und *C. Sappan* L. (Sappanholz), weniger

---

[1] Herzig und Pollak, Monatshefte für Chemie. *25*, 871 (1904); Chem. Centralblatt, 1904, II, 1313.

geschätzt sind *C. bicolor* C. H. Wright., *C. bijuga* Sw., *C. brasiliensis* Sw., *C. crista* L. und *C. tinctoria* Benth., die unter den mannigfachsten technischen Bezeichnungen, je nach ihrer Herkunft, im Handel sind und eine Zuteilung zu einer bestimmten Art oft unmöglich machen, zumal sie auch anatomisch wenig differieren.[1] Die Anwendung des Rotholzes, beziehungsweise seines Extraktes in der Färberei ist heute nur noch eine beschränkte, da die erzielten Farben unbeständig sind und so durch künstliche Farbstoffe leicht ein Ersatz geschaffen werden konnte.

Der eigentliche Farbstoff ist das Brasileïn, das durch Oxydation aus dem Brasilin entsteht.

Nachstehende Tabelle gibt eine Übersicht über das Verhalten von Schnitten durch das Holz, beziehungsweise daraus gewonnener Extrakte verschiedenen Reagentien gegenüber, und zwar beziehen sich alle Angaben auf *C. echinata.* Zum Vergleich herangezogenes Material von *C. Sappan* zeigte im großen und ganzen dasselbe, so daß eine eigene Behandlung nicht notwendig erscheint.

Die Nuancen der erzielten Farbenreaktionen durch Benutzung der sehr brauchbaren Farbenatlanten[2] zu fixieren, um in deren Bezeichnung dem subjektiven Farbensinn des Beobachters nicht allzu großen Spielraum zu lassen, erwies sich nicht als vorteilhaft, da dieselben innerhalb weiter Grenzen schwanken, je nach der Menge der Flüssigkeit, Konzentration des Reagens, Alter des Holzes etc.

Krystallisation. Feines Holzpulver wurde mit Alkohol oder Eisessig durchfeuchtet und bei 40° auf dem Sublimationsring HCl-Dämpfe ausgesetzt. Neben amorphen rotbraunen, körnigen, krümeligen Massen liegen zahlreiche gelbrote bis dunkelbraune Sphärite. Bessere Resultate gab die Einwirkung kalten HCl-Dampfes in der Kammer. Sphärite traten viel häufiger auf, besonders reichlich und schön dort, wo etwas Flüssigkeit unter dem Deckglas hervorgetreten ist.

Die Tatsache, daß kein krystallisiertes Bleisalz erhalten wurde, ferner die Bildung des Chlorhydratproduktes sprechen im gegebenen Falle dafür, daß nicht Brasilin, sondern nur dessen Oxydationsprodukt, das Brasileïn vorliegt. Die untersuchten Hölzer besitzen alle bereits ein beträchtliches Alter. Frisch gesammelte Proben standen nicht zur Verfügung.

---

[1] Die zahlreichen technischen Bezeichnungen sowie die anatomische Charakteristik dieser und der im folgenden besprochenen Hölzer findet sich ausführlich bei Wilhelm K., Hölzer, in Wiesner J., Die Rohstoffe des Pflanzenreiches, 2. Bd., III. Aufl., Leipzig, 1919, das wichtigste auch in dem Abschnitt von Wilhelm K., Naturgeschichtliches, der innere Bau des Holzes, die wichtigsten Nutzhölzer, in P. Krais, Gewerbliche Materialkunde, Bd. I, Stuttgart, 1910.

Die Chemie der Farbstoffe ist ausführlich und übersichtlich zusammengestellt von Rupe H., Die Chemie der natürlichen Farbstoffe, in Bolley P. A. und Birnbaum K., Handb. d. chemischen Technologie, Bd. V, 4, Braunschweig, 1910, und Rupe H. u. Altenburg H., Pflanzenfarbstoffe, in Abderhalten, Biochemisches Handlexikon, Bd. VI, Berlin, 1911, ferner in Czapek Fr., Biochemie der Pflanzen, Bd. III, II. Aufl., Jena, 1921.

[2] Klincksieck et Valette, Code des Couleurs 1908. Ostwald W., Der Farbenatlas, Leipzig.

Alkohol, Eisessig, Wasser, Äther	Lösen mit gelber bis orangegelber Farbe	Vollkommene Extraktion schwer. Wasser, das Spuren von Alkali enthält, löst tief karminrot
H_2SO_4 konz.	Löst und färbt Schnitt braunrot	Bei längerem Stehen des Präparates oder bei Zusatz von Wasser schwach gelblicher, flockiger Niederschlag
H_2SO_4 verd.	Löst mit blutroter Farbe	
HNO_3 konz.	Löst orangegelb	
HNO_3 verd.	Löst und färbt Schnitt karminrot	Beim Erwärmen bräunlichgelb
HCl konz.	Schnitt leuchtend rot. Spuren von Farbstoff gehen in Lösung	Krystallisation mittels HCl-Dampf oben
K_2CO_3, NH_3, KOH	Lösen und färben Schnitt prachtvoll karmin	Beim Erwärmen in KOH geht Lösung in schmutzigrot und endlich in braunrot über
$Ba(OH)_2$	Löst und färbt Schnitt rosa	
Kalialaun	Färbt wässerige Lösung hellrosa	
$FeCl_3$	Färbt wässerige Lösung schmutzig bis dunkel rotbraun	Nach Vogl werden Zellwände dunkelviolett gefärbt, bei *C. Sappan* nach Zusatz von Alkohol tief blau
Neutr. Bleiacetat	Mehr rosenrote Fällung	
Bas. Bleiacetat	Mit kochender, wässeriger Lösung, blauvioletten, amorphen, flockigen Niederschlag	Reines Brasilin gibt unter diesen Umständen ein gut krystallisierbares Bleisalz (farblose Nadeln und Nadelbüschel, die beim Trocknen rot werden). Diese Reaktion läßt sich sehr gut mikrochemisch verwerten und ist sehr empfindlich
ammoniak. $AgNO_3$	Wird kalt reduziert	
Fehling'sche Lösung	Heiß reduziert	

Lokalisation. Sämtliche Elemente des Holzkörpers erscheinen in Wasser oder Glyzerin leuchtend orange gefärbt. Sehr gute Dienste leistete die Untersuchung in Kanadabalsam, die auch bei den anderen Objekten angewendet wurde. Die Schnitte werden direkt darinnen eingeschlossen und infolge der starken Aufhellung lassen sich die einzelnen Details sehr gut verfolgen. Zahlreiche gelbrote, braunrote bis rotbraune Massen liegen in den Gefäßen, diese oft teilweise erfüllend, bei *C. echinata* mächtiger ausgebildet als bei *C. Sappan*, ferner im Parenchym und in den Markstrahlzellen oft neben den Krystallen. Außer dem dunkler gefärbten Inhalt kommt in den Gefäßen von *C. echinata* auch rein gelber, homogener vor. (Bei *C. Sappan* konnte ich solchen nicht finden, was auch Wilhelm (l. c.) dahingestellt läßt.) Der Inhalt der Parenchym- und Markstrahlzellen löst sich in Alkali mit typischer Farbe, nicht aber der der Gefäße, sowohl der dunkle als auch der hellgelbe, trotz Einwirkung durch 24 Stunden, wohl aber wird er karmin verfärbt, was auf eine Adsorption hindeutet. Diese unlösliche Grundmasse wird von Praël (l. c.) als Gummi angesprochen.

Hämatoxylin, beziehungsweise Hämateïn

wird aus dem Kernholz von *Haematoxylon Campecheanum* L. (Campeche- oder Blutholz) gewonnen. Auch hier führen einzelne Sorten je nach ihrer Herkunft verschiedene Handelsbezeichnungen, über die eine schöne Zusammenstellung bei Rupe (l. c.) sich findet. Der Farbstoff findet auch heute noch ausgedehnte Anwendung in der Färberei. Der eigentliche färbende Faktor ist das Hämateïn, ein Oxydationsprodukt des Hämatoxylins.

Nachstehende Tabelle gibt eine Zusammenstellung und Übersicht über die charakteristischesten und wichtigsten Reaktionen.

Alle Versuche, eine Krystallisation zu erzielen, schlugen fehl. Krystallbildung aus Lösungsmitteln versagte, es resultierten immer nur amorphe Massen. Ebensowenig führte HCl-Dampf bei 40° und kalt angewendet zum Ziel. Der Grund dafür liegt wohl klar auf der Hand. Erstens ist der Farbstoff in HCl löslich, daher scheidet dieser Faktor für die Krystallisation aus, und zweitens wird er von HCl schwer angegriffen. So fand Dralle,[1] daß selbst bei tagelangem Kochen von Hämatoxylin in konzentrierter HCl keine wesentliche Zersetzung eintrat.

Lokalisation. Schnitte in destilliertem Wasser zeigen alle Elemente goldgelb bis orange gefärbt, kalkhaltiges Leitungswasser bewirkt baldige Verfärbung über violett in karmin. Die Untersuchung wurde in Kanadabalsam-Präparaten geführt, auch dort erscheinen sämtliche Zellwände goldgelb, der Schnitt in dicker Lage tief orangerot. Die Wände der Gefäße sind leuchtend gelb und innerhalb dieser liegen häufig zahlreiche tief rotbraune, leuchtende Massen

---

[1] Dralle, Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft. *17*, 372 (1885).

Methylalkohol, Äthylalkohol, Eisessig, Wasser heiß	Lösen aus Schnitten Farbstoff mit tiefgelber bis orangegelber Farbe	Leitungswasser löst herrlich karmin bis violett, destilliertes Wasser goldgelb
HCl konz.	Färbt Schnitt karmin und löst	Beim Eintrocknen tief rot gefärbte Massen
H_2SO_4 konz.	Löst mit tieforangeroter bis zinnoberroter Farbe	Nach mehrstündigem Stehen oder auf Wasserzusatz braungelber, flockiger Niederschlag
Chromsäure	Gibt in Lösung schwärzlichen Niederschlag	
KOH	Löst tiefblau, mit Stich ins Violette	Schlägt allmählich in stahlgrau um
K_2CO_3	Löst mit herrlich purpurner Farbe	
NH_3	Löst mit purpurner Farbe	Beim Eintrocknen dunkle, amorphe Massen
$Ba(OH)_2$	Aus wässeriger Lösung Farbstoff blau gefällt	Schnitt wird allmählich tief blauviolett verfärbt
$FeCl_3$	Lösung dunkelgrün, schwarz verfärbt	Keine Fällung
Zinnchlorür	Färbt wässerige Lösung herrlich violett	
Eisenalaun	Schwarzvioletter Niederschlag	
$CuSO_4$	Blauer Niederschlag	
Neutr. Bleiacetat	Blauer Niederschlag	
Bas. Bleiacetat	Blaugrauer Niederschlag	
ammon. $AgNO_3$	Kalt reduziert	
Fehling'sche Lösung	Heiß reduziert	

entweder in größeren kompakten Stücken oder einzeln und kleiner, sowie Kugeln. Markstrahlzellen sind häufig fast vollständig ausgefüllt. Im Strangparenchym findet man auch neben Krystallen von oxal-

saurem Kalk ebenfalls braunrote amorphe Inhaltsmassen, in den krystallfreien Zellen meist an einem Ende der Zelle meniskusartig gelagert.

Im übrigen sind mehr oder weniger reichlich gefärbte Körnchen oder Klümpchen in allen Elementen vorhanden. Die Inhaltsstoffe sind sämtlich unlöslich in Wasser, Alkohol — auch heiß angewendet — und Äther und sind nach Praël (l. c.) gummiartiger Natur. Da sämtliche Inhaltsstoffe mit verschiedenen Reagentien typisch reagieren, dürfte auch hier durch sie beim Eintrocknen des Zellinhaltes adsorbtiv festgehaltener oder gespeicherter Farbstoff vorliegen.

Robinin

wurde zuerst von Zwenger und Drenke[1] in den Blüten von *Robinia pseudacacia* L. gefunden. Dort wurde es auch von Klein (l. c.), ferner in den Blättern und in der Rinde histochemisch nachgewiesen. Im Kernholze, das eine gelbliche, gelblichgrüne bis gelbbraune Farbe zeigt, ist ebenfalls ein gelber Farbstoff vorhanden, über den ich in der Literatur keine chemischen Angaben finden konnte und den ich auf Grund seiner Reaktionen mit dem Robinien identisch, zumindest aber als Flavon anspreche. Endgültige Klarheit kann erst eine chemische Untersuchung schaffen.

Einige typische Reaktionen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Krystallisation. Aus dem gereinigten und stark eingeengten Extrakt konnte der Farbstoff krystallisiert erhalten werden. Aus Alkohol in gelben Schollen, Sphäriten, Drusen oder derben Krystallaggregaten von gelber Farbe. Krystallisation auf dem Objektträger aus Schnitten mittels Lösungsmitteln gelang nicht, wohl aber gab gute Resultate Einwirkung von HCl-Dampf kalt in der Kammer auf alkoholische Lösung. Nach dem Eintrocknen findet man gelbe bis gelbbraune — in Luft untersucht erscheinen sie dunkel — Schollen und Sphärokrystalle.

Lokalisation. Schnitt durch das Kernholz zeigt sich in Glyzeryn in dickerer Schicht, hellgelb gefärbt. Membranen des Strangparenchyms und der Libriformfasern sind hellzitronengelb, Markstrahlzellen hellgelb, Gefäßwände sowie Thyllen nur ganz schwach gelb angefärbt. Als Inhaltsstoffe finden sich in sämtlichen Elementen vereinzelte gelbliche Tröpfchen, ferner in den Markstrahlzellen und im Strangparenchym amorphe körnige, rotbraune Massen von Gummi, die jedoch vorwiegend nur im innersten Teil des Kernholzes auftreten und dessen mehr bräunliche Färbung verursachen, während der periphere Teil solchen Inhalt nur vereinzelt führt und von mehr gelblicher Färbung ist.

---

[1] Zwenger und Drenke, Annalen der Chemie und Pharmazie, Suppl. I, 263 (1861).

Wasser, Methylalkohol, Äthylalkohol, Eisessig	Lösen	Die einzelnen Lösungsmittel lösen mit verschiedener Nuance (hellgelb bis braungelb), da durch die einzelnen verschiedene Inhaltsstoffe der Zellen mitgelöst werden
HCl konz.	Färbt Schnitt strohgelb	
NH_3, KOH	Färben Schnitt tieforange und lösen	
$Ba(OH)_2$	Fällt rotorange bis gelbbraunen Niederschlag	Wässeriger Extrakt
Bas. Bleiacetat	Tiefgelbe Fällung	
Neutr. Bleiacetat	Tiefgelbe Fällung	
Kupferacetat	Schmutziggelbe Fällung	
$FeCl_3$	Färbt Lösung schwarzgrün	
ammon. $AgNO_3$	Kalt reduziert	
Fehling'sche Lösung	Kalt reduziert	

Fisetin

bedingt die dunkelgelbe Farbe des Kernholzes von *Rhus cotinus* L. (*Cotinus Coggygria* Scop., *C. Coccygea* C. Koch), dem in Südeuropa heimischen Perückenstrauch. Das Holz ist unter dem Namen »Fisetholz«, »Ungarisches Gelbholz«, »Junger Fustik« im Handel geläufig, früher vielfach zum Färben von Wolle, Seide und Leder verwendet, ist seine Anwendung infolge der Lichtunechtheit heute nur noch eine beschränkte. Ferner wurde Fisetin gefunden im Holz von *Rhus rhodanthema* F. v. Mueller, *Schinopsis Balansae* Engl (*Quebracho colorado*), und *Schinopsis Lorentzii (Gris)* Engl. Eine mir als *Rhus coriaria* L. bezeichnete vorliegende Probe enthält ebenfalls ein tief gelb gefärbtes Kernholz. In seinen Reaktionen stimmte es vollkommen mit dem von *Rhus cotinus* L. überein, so daß sie wohl beide identisch sein dürften. Auf letzteren beziehen sich die in nachfolgender Tabelle angegebenen Reaktionen.

Krystallisation. Infolge des reichlichen Farbstoffgehaltes geht die Krystallisation sehr gut. Für die Behandlung mit HCl-Dampf bei 40° mittels des Sublimationsringes ist ein Zerreiben des Holzes nicht unbedingt erforderlich, da der Farbstoff sehr reichlich in

Alkohol, Aceton, Essigäther	Lösen mit gelber Farbe	
Äther, Benzol, Petroläther, Chloroform, Wasser	Unlöslich	In heißem Wasser nur wenig löslich
K_2CO_3, NH_3, KOH	Lösen und färben Schnitt tief orangegelb, orangerot bis blutrot	
$Ba(OH)_2$	Färbt Schnitt rotbraun bis rot und löst mit kirschroter Farbe	
HCl konz.	Löst und färbt Schnitt leuchtend orange	
H_2SO_4 konz.	Löst und färbt Schnitt blutrot	
Verdünnte Mineralsäuren	Lösen mit gelber Farbe	
$FeCl_3$	Färbt Lösung schmutziggrün bis grünschwarz	
Basisches Bleiacetat	Fällt aus alkoholischer Lösung orangegelben bis ockergelben amorphen Niederschlag	
ammon. $AgNO_3$	Kalt reduziert	
Fehling'sche Lösung	Heiß reduziert	

Lösung geht, doch bekommt man andernfalls bessere Resultate. Neben hellen amorphen, krümeligen Massen liegen reichlich ockergelbe bis gelbbraune Sphaerokrystalle oder Schollen, die oft ansehnliche Größe erreichen können.

HCl-Dampf kalt angewendet in der Kammer — Lösungsmittel Alkohol — ergab ebenfalls reichliche Krystallbildung von großer Mannigfaltigkeit. Vorwiegend traten auf Sphärite von obiger Farbe, ferner Pinsel, Doppelpinsel, strohbüschelartige Gebilde, Büschel von zarten, dünnen, gebogenen Krystallnadeln und derbe Sterne. Die Farbe wechselte je nach der Dicke von ockergelb bis braun. Auch Krystallisation aus Lösungsmitteln gelang, und zwar aus Aceton. Einem Schnitt wird unter Deckglas, eventuell durch Erwärmen, möglichst viel Farbstoff entzogen und dann langsam eintrocknen gelassen. Vorherrschend erhielt ich Krystallbüschel, zusammengesetzt aus derben Nadeln oder Blättchen von ockergelber Farbe, seltener Sphaerite, wie sie Klein erhielt.

Lokalisation. Sämtliche Elemente des Holzes zeigen sich in Kanadabalsam tief zitronengelb gefärbt, führen einen gelblichen bis orangegelben gefärbten, amorphen Inhalt, besonders reichlich die Markstrahlzellen, der durch heißes Wasser und Alkalien mit typischer Farbe gelöst wird.

Morin

wurde nachgewiesen im echten Gelbholz, dem Kernholz von *Chlorophora tinctoria* (L.) Gaudich (*Maclura tinctoria* D. Don, *Morus tinctoria* L., *Broussonetia tinctoria* Kunth.), und zwar teils frei, teils an Kalk gebunden neben dem Maclurin (Moringerbsäure). Ferner im Holze von *Artocarpus integrifolia* Forst, wo es von Cyanomaclurin begleitet ist. Auch das Kernholz von *Maclura aurantiaca* Nuth. enthält einen gelben Farbstoff, der auf Grund seiner Reaktionen wohl als mit Morin identisch angesehen werden kann. Wilhelm (l. c.) betont ausdrücklich, daß *M. aurantiaca* nicht als Stammpflanze des echten Gelbholzes angesehen werden kann, während Praël (l. c.) sie als echtes Gelbholz beschreibt. Auch Vogl (l. c.) behandelt das echte Gelbholz und das Holz von *M. aurantiaca* getrennt. Praël beschreibt auch bei *Morus alba* L. einen gelb gefärbten Kern und führt einige Reaktionen aus, nach denen auch hier Morin vorliegen dürfte.

Der eigentliche Farbstoff ist das Morin; um für dieses die Reaktionen eindeutig gestalten zu können, war es notwendig, beim Gelbholz das Maclurin zuerst zu entfernen. Dies konnte durch die ungleichen Lösungsverhältnisse leicht erzielt werden, denn ersteres ist in Äther unlöslich, das Maclurin jedoch löslich. Holzpulver oder Schnitte wurden also zuerst immer mit Äther erschöpfend behandelt und erst dann mit dem so vorbehandelten Material die Reaktionen ausgeführt. Um sicherzugehen, wurde auch *M. aurantiaca* zuerst einer Behandlung mit Äther unterworfen und dann erst geprüft.

Werden einer alkoholischen Lösung einige Tropfen Kalialaun zugesetzt, so fluoresziert die gelbe Lösung herrlich grün (vgl. Wilhelm l. c.).

Krystallisation. Zu diesem wurde ebenfalls zuerst mit Äther vorbehandeltes Material verwendet. Sie ließ sich sowohl bei *Chlorophora tinctoria*, als auch bei *Maclura aurantiaca* sehr leicht durchführen. Beide Methoden gaben gute Resultate. In dem einen Falle (HCl-Dampf bei 40°) entstanden vorwiegend Drusen und warzenartige Gebilde, ferner Krystalle von Gestalt derber Doppelpinsel von hellgelber bis ockergelber Farbe. Mit kaltem HCl-Dampf behandelte Präparate lieferten beim Eintrocknen unter Deckglas herrliche Krystalle, vorwiegend von Scheiben- oder Plattenform und sphäritischem Aussehen mit deutlich radiären Trichiten. Ihre Farbe ist hell- bis zitronengelb, in dickerer Schicht mehr ockerfarben.

Vergleichend wurden auch nicht mit Äther vorbehandelte Holzproben zur Krystallisation verwendet und in allen Fällen gute

Wasser	Löst schwer	Kalt 1:4000, heiß 1:1000
Methylalkohol, Äthylalkohol, Eisessig, Aceton	Lösen	
Äther, Schwefelkohlenstoff	Unlöslich	
KOH, NH_3, K_2CO_3	Lösen und färben Schnitt tief gelb	Säuren fällen daraus den Farbstoff flockig aus
$Ba(OH)_2$	Färbt Schnitt gelb und löst	
Bleiacetat	Fällt aus alkoholischer Lösung Farbstoff aus	
$FeCl_3$	Färbt alkoholische Lösung dunkelolivgrün	
H_2SO_4 konz.	Löst und färbt Schnitt tief orangegelb	Auf Zusatz von Wasser oder durch längeres Stehen an der Luft wird ockergelber Niederschlag ausgefällt
ammon. $AgNO_3$	Kalt reduziert	
Fehling'sche Lösung	Kalt reduziert	

Krystallbildung erzielt. Das anwesende Maclurin wirkt also in keiner Weise störend ein. Krystallisation aus Lösungsmitteln (Methylalkohol, Äthylalkohol, Eisessig, Aceton) gelang nicht.

Die Krystallisation mittels HCl-Dampf, gleichgültig auf welche Art verwendet, versagte bei *Artocarpus integrifolia* Forst. Nach dem Eintrocknen fanden sich nur gelbe Tröpfchen, ferner krümelige und derb amorphe Massen von gelber bis brauner Farbe, nie aber Krystalle.

Lokalisation. Schnitt von *Chlorophora* erscheint in Kanadabalsam mehr oder minder gelbbraun gefärbt. Farbstoff führen sämtliche Elemente, besonders stark sind die Sklerenchymfasern gefärbt. In vielen Elementen liegt ein gelber, orangegelber bis gelbbrauner Inhalt (Körnchen, Tröpfchen, amorphe Massen), der sich in Alkohol fast vollständig löst, der unlösliche Rest ist wohl auch hier Gummi. Die in manchen Gefäßen vorkommenden Klumpen von Krystallen lösen sich in Alkohol mit lichtgelber Farbe und sollen an Kalk gebundenes Morin sein.

Vogl (l. c.) fand in den in einzelnen Holzblöcken auftretenden Klüften gelbe, pulverige Massen, diese ausfüllend, die sich bei mikroskopischer Betrachtung als Krystalle erwiesen, und zwar von zweierlei Gestalt: größere rektanguläre oder hexagonale Tafeln von hellgelber Farbe (moringerbsaurer Kalk?) und kleinere prismatische farblose in geringerer Menge (morinsaurer Kalk?). Sie lösen sich farblos in heißem Wasser, in warmer Essigsäure und kaltem Alkohol, in Äther lösen sie sich allmählich mit gelber Farbe und können daraus beim Eindunsten wieder krystallisiert erhalten werden (kreuz- und sternförmige Krystalle von gelber Farbe). In Benzin, Chloroform und Terpentinöl sind sie unlöslich. Sonst zeigen sie verschiedenen Reagentien gegenüber das typische Verhalten von Morin, was jedoch nicht aussagt, daß nur Morin und nicht auch Maclurin vorliegt. In den mir zur Verfügung stehenden Holzproben fand ich derartige Krystallanhäufungen nicht.

Maclura aurantiaca stimmt, von anatomischen Unterschieden und dem Mangel von Krystallen abgesehen, mit Vorstehendem im großen und ganzen überein, nur war das Auftreten von rotorange bis rotbraun gefärbten Inhaltsmassen, die sich auch in kochendem Alkohol nicht lösten, reichlicher, besonders in Parenchym- und Markstrahlzellen.

Im Holz von *Artocarpus integrifolia* Forst. führen die Parenchymzellen besonders reichlichen Inhalt und sind oft von einer in Kanadabalsam leuchtend goldgelb erscheinenden Masse (in Wasser dunkel rotbraun) vollständig erfüllt, die in kochendem Wasser und Alkohol nicht gelöst wird, desgleichen auch von Ammoniak nicht alteriert wird und ebenfalls wie oben Gummimassen darstellen dürfte.

Wenn vorliegende Arbeit keineswegs Anspruch auf Vollständigkeit machen darf, so wurde doch der Hauptzweck erreicht, Krystallisation der Farbstoffe einiger Farbhölzer auf mikrochemischem Wege zu erzielen und die Methodik für diese Zwecke festzulegen. Die gleichzeitige Zusammenstellung und Ausarbeitung weiterer charakteristischer Reaktionen dürfte auch dem Praktiker nicht unwillkommen sein. Weiters hat sich gezeigt, daß die HCl-Dampfmethode nicht nur in speziellen Fällen, sondern allgemeine Anwendung zum Nachweis der Flavone finden kann und daß sie auch dort nicht versagt, wo solche nicht im Zellsaft gelöst vorliegen, sondern entweder eingetrocknet oder von anderen Substanzen adsorbtiv festgehalten sind, nur müssen sie in diesem Falle durch geeignete Mittel in Lösung gebracht werden.

Ferner trug ich gerne dazu bei, daß das Kapitel »Flavone« vom histochemischen Standpunkt aus zu einem gewissen Abschluß gebracht werde.[1]

---

[1] Ich folgte deshalb gerne der Einladung des Herrn Dozenten Dr. Gustav Klein, diese Arbeit zu übernehmen und sage ihm an dieser Stelle meinen besten Dank.

Zusammenfassung.

Die von Klein ausgearbeitete Methode zum Nachweis der Flavone (HCl-Dampf bei 40°) hat sich bei der Untersuchung flavonführender Farbhölzer gleichfalls bewährt und damit ist ihre allgemeine Verwendbarkeit erwiesen. In einigen Fällen ergab eine Modifikation (Einwirkung kalten HCl-Dampfes) bessere Resultate, indem Krystalle in reichlicherer Menge und von mannigfacheren Formen auftraten. Notwendig ist es, daß durch geeignete Lösungsmittel (Methyl- und Äthylalkohol, Eisessig) möglichst viel Farbstoff in Lösung gebracht wird. Auf diese Art gelang eine Krystallisation in allen Fällen mit Ausnahme bei *Haematoxylon Campecheanum* L.

Fisetin ließ sich auch aus Aceton krystallisiert erhalten, sonst versagte die Krystallisation aus Lösungsmitteln.

Zur weiteren Charakterisierung der einzelnen Farbstoffe wurden Farbenreaktionen herangezogen, übersichtlich zusammengestellt und mit ihrer Hilfe deren Lokalisation ermittelt. Sonst tragen sie mehr praktischen Bedürfnissen Rechnung.

Die Farbstoffe finden sich hauptsächlich in den Zellmembranen, seltener im Zellinneren, dort meist von Gummimassen und anderen Inhaltsstoffen adsorbtiv festgehalten, seltener amorph abgeschieden, bei *Chlorophora* krystallisiert.

Untersucht wurden die Kernhölzer von *Caesalpinia echinata* Lam., *C. Sappan* L. (Brasilin), *Haematoxylon Campecheanum* L. (Hämatoxylin), *Robinia pseudocacia* L. (Robinin), *Rhus Cotinus* L., *Rhus coriaria* L. (Fisetin), *Chlorophora tinctoria* (L.) Gaudich., *Maclura aurantiaca* Nutt. und *Artocarpus integrifolia* Forst. (Morin).

Zu vielem Dank bin ich auch den Vorständen des Botanischen Institutes der Hochschule für Bodenkultur und der botanischen Abteilung des Hofmuseums verpflichtet, die mir in entgegenkommendster Weise Holzproben zur Verfügung stellten, so daß es mir möglich war, neben den aus der eigenen Sammlung des Institutes stammenden Hölzern auch solche anderer Herkunft und anderen Alters zu untersuchen.
